橡胶树茉莉酸信号途径相关基因表达与橡胶产量的相关性

杨署光[1]，赵 悦[2]，陈月异[1]，李 言[1]，张世鑫[1]，田维敏[1*]

（1. 中国热带农业科学院橡胶研究所、中华人民共和国农业农村部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室、省部共建国家重点实验室培育基地-海南省热带作物栽培生理学重点实验室，海南 儋州 571737；2.中国农业大学 农学院，北京 100193）

摘要：割胶促进橡胶树合成天然橡胶与激活乳管细胞的茉莉酸信号途径密切相关。茉莉酸信号途径关键环节的基因表达水平与干胶产量的相关性尚不清楚。本文采用 qPCR 技术，分析了割胶条件下茉莉酸信号途径关键环节的 9 个相关基因在 5 个橡胶树魏克汉种质和 5 个 1981’IRRDB 种质乳管细胞中的表达。结果表明，绝大多数魏克汉种质的株次干胶量显著高于 1981’IRRDB 种质。在 9 个基因中，除了 *HbMYC4* 和 *HbMYC5*，其余 7 个基因在绝大多数橡胶树魏克汉种质中的表达量均显著高于 1981’IRRDB 种质，尤其是 *HbMYC3* 基因表达的差异性好，与干胶产量相关性高，有望作为橡胶树产量育种的一个的分子标记。

关键词：巴西橡胶树，割胶，橡胶生物合成，茉莉酸信号途径，*HbCOI1*，*HbJAZs*，*HbMYCs*，基因表达

Correlation between the expression level of genes related to jasmonate signalling and rubber yield

YANG Shuguang[1], ZHAO Yue[2], CHEN Yueyi[1], LI Yan[1], ZHANG Shixin[1], TIAN Weimin[1*]

(1. *Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Minstry of Agriculture and Rural Affairs of the People’s of China Key Laboratory of Rubber Biology/State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops*, Danzhou 571737, Hainan, China; 2. *College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University*, Beijing 10093, China)

Abstract: Tapping-enhanced rubber biosynthesis is closely related to the activation of jasmonate signaling in laticifer cells of rubber tree. The relationship between the expression level of the genes involved in jasmonate signaling and dry rubber yield remains not elucidated. In the present study, the expression of 9 genes related to jasmonate signaling was analyzed by qPCR in the laticifer cells of 5 Wichham germplasms and 5 1981’IRRDB germplasms upon tapping with S/2 d/3 tapping system. The rubber yield per tapping of most Wichham germplasms was significantly higher than that of 1981’IRRDB germplasms. Except for *HbMYC4* and *HbMYC5*, the expression level of the other seven genes in most of Wichham germplasms was significantly higher than that of 1981’IRRDB germplasms. It was noted that the expression of *HbMYC3* was highly difference and closely related to the rubber yield, which may be used as a candidate marker for rubber yield-breeding of rubber tree.

Key words: *Hevea brasiliensis*, tapping, rubber biosynthesis, jasmonate signaling, *HbCOI1*, *HbJAZs*, *HbMYCs*, gene expression

茉莉酸是植物应对逆境胁迫的关键信号分子（Qi et al，2011），其信号传导的三个核心环节是 COI1、JAZ 和 MYC（Chini et al，2009）。在缺乏 JA-Ile（活性形式 JA）（Fonseca et al，2009）时，JAZ 蛋白与 MYC2 互作，抑制 MYC2 对 JA 响应基因的转录激活。例如，在

基金项目：海南省自然科学基金（20153136）；国家天然橡胶产业技术体系分子育种岗位专项（CARS-34-GW1）[Supported by the Provincial Natural Science Foundation of Hainan (20153136); The Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-34-GW1)]。

作者简介：杨署光（1982-），男，苗族，云南省临沧凤庆人，硕士，助理研究员，主要从事橡胶树分子遗传学研究，（E-mail）yangshuguang198241@163.com。

*通信作者：田维敏，博士，教授/研究员，主要从事橡胶树发育生物学研究，（E-mail）wmtian@163.com。

拟南芥中，AtJAZ1 和 AtJAZ3 蛋白通过抑制 AtMYC2、AtMYC3 和 AtMYC4 转录因子，影响硫代葡萄糖苷（glucosinolate）的合成（Schweizer et al，2013）。AtJAZ1 和 AtJAZ3 蛋白与 WD-Repeat/bHLH/MYB 复合体相互作用，抑制花青素的合成（Qi et al，2011）。但是在 JA-Ile 存在的条件下，JAZ 与 COI1 结合，进而通过 26S 蛋白酶体被降解，使 MYC2 转录激活 JA 响应基因（Donnell et al，1996；Chini et al，2007；Qi et al，2011）。发生在橡胶树乳管细胞中的橡胶生物合成是一种典型的植物类异戊二烯代谢。最近研究表明，割胶树的乳管细胞茉莉酸含量显著高于未开割树，割胶促进天然橡胶生物合成与激活乳管细胞中的茉莉酸信号途径密切相关（Deng et al，2018）。但是，茉莉酸信号途径关键环节的相关基因表达与橡胶产量的相关性尚不清楚。本研究通过分析茉莉酸信号途径关键环节相关基因的表达与橡胶产量的相关性，旨在找到与产量相关的分子标记，对于育种周期长的橡胶树产量育种具有重要的实际应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

实验树是割龄为 10 年的巴西橡胶树（*Hevea brasiliensis*）的 5 份魏克汉种质和 5 份 1981’IRRDB 种质。其中 5 份魏克汉种质是经过人工选育的橡胶树品种 PR107、RRIM600、热垦 628、热垦 525 和热垦 523；5 份 5 份 1981’IRRDB 种质是没有经过人工选育的，种质编号为 RO/CM/10 44/160、MT/IT/13 29/8、RO/C/8 24/104、RO/I/103 107、RO/CM/10 44/454。这些实验树种植于中国热带农业科学院实验场。DNase I 购自天根公司。反转录试剂盒 RevertAid^{TM} H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit 购自 Ferments 公司。qPCR 试剂 SYBR$^{®}$ Ppermix Ex Taq^{TM} II（2×）（Tli RNaseH Plus）购自大连宝生物公司（TaKaRa Japan）。其它生化试剂均为进口或国产分析纯试剂。引物合成由 Invitrogen 公司完成。

1.2 方法

1.2.1 材料处理

每个种质选 3 株，在生产中正常割胶（S/2D d3：二分之一树围，阳刀，三天一刀）的第十刀，收集前 10 min 流出的胶乳，每个种质均取 3 株的等体积混合样，用于提取胶乳总 RNA。

1.2.2 干胶产量测定方法

该研究中的干胶产量测定参照曾霞等的方法进行（曾霞等，2006）。

1.2.3 总 RNA 的提取与 cDNA 的合成

胶乳总 RNA 提取参照曾日中等的方法（曾日中等，2003）。cDNA 第一链的合成根据试剂盒的操作步骤进行：取 1 μg 胶乳总 RNA 反转录合成 cDNA 第一链，稀释 10 倍后作为 qPCR 分析的模板。

1.2.4 基因表达分析

1.2.4.1 qPCR 反应

qPCR 反应体系为 20 μL，其中 SYBR$^{®}$ Ppermix Ex Taq^{TM} II（2×）10 μL、上游引物 0.4 μL、下游引物 0.4 μL（引物浓度为 10 μmol L^{-1}，反应体系中每条引物终浓度均为 0.2 μmol L^{-1}）、cDNA 模板 1 μL、ddH$_2$O 8.2 μL。qPCR 反应在 LightCycler$^{®}$ Capillaries（20 μl,Roche）毛细管中完成，在 Roche Diagnostics 公司的 LightCycler Real Time PCR 扩增仪中运行，实验操作按仪器使用说明书进行，qPCR 反应程序：95 ℃ 30 s、95 ℃ 5 s、60 ℃ 20 s、72 ℃ 20 s，共 40 个循环，40 个循环后进行溶解曲线分析（60~95 ℃，0.2 ℃ S^{-1}），运行结束后冷却至 40 ℃。每个样品做 2 次技术性重复，Cq 标准差控制在 0.2 以内。利用 LightCycler Software 4.05 软件采集 qPCR 反应的 Cq 值。

1.2.4.2 qPCR 引物筛选

根据GenBank登录的基因的cDNA全长序列设计qPCR引物。以10倍梯度稀释的cDNA为摸板制备标准曲线，获得目的基因qPCR引物的扩增效率，选择扩增效率在85%以上的引物对开展实验；通过溶解曲线峰的数目判断引物的特异性，选择具有单一的溶解曲线峰的引物对开展实验；获得的qPCR产物通过测序印证。该研究所用引物见表1。

表1 qPCR引物及相关参数

Table 1 Primers for qPCR together with related parameters

基因登录号码 GenBank accession number	基因 Gene	引物对 Primer pairs（5′to 3′）	引物效率 Efficiency of primer pairs	qPCR产物长度 Length of qPCR product （bp）
AY435212.1	*Hb18S*	GCTCGAAGACGATCAGATACC	1.922±0.003 97	145
		TTCAGCCTTGCGACCATAC		
EU136026	*HbCOI1*	GGGTTCCTTCAATGATATGCCAG	1.925±0.007 30	170
		TGGTCCTCTGTGTCAAGCAATG		
GQ769508	*HbJAZ1*	TGGCTGGTCAATCTTTGCAGTA	1.996±0.017 8	168
		AAAAGGTTAGGTCTACGGTGGC		
KP844627	*HbJAZ2*	AGTGGCTGCTTAATCTTCGCA	1.914±0.004 63	176
		ACCAAAAGGAAACAGCAGGATT		
KP844628	*HbJAZ3*	AACTTGCCCAAAATGGAATCTC	1.920±0.006 37	155
		CATACGGGGATACCGAAGTCA		
GU434304	*HbMYC1*	TCTTTAAATAACCCCAAGTCTCACTT	2.002±0.003 63	141
		TGTTCTTTTCTGTTTTTTGGTTTAGC		
HM061097	*HbMYC2*	TCATATCTCCCACTTCCCCCA	1.963±0.003 57	189
		CTGACAAAACGACATAAAGGAGGA		
HM347338	*HbMYC3*	TCTCTCGCTTCCCTACCCTCT	1.873±0.013 6	140
		TCCTCCATTGATATCTTTTTCTCG		
HM347339	*HbMYC4*	CTGTCCCTTTCTCCATTTCTCAA	1.938±0.003 21	161
		CTTGACAAAACGACATAAAGGAGG		
HM347340	*HbMYC5*	CTGCTTAAAACCCTTTGCCTGT	1.985±0.004 19	118
		GGGGGGCATAATCTCTTCCA		

1.2.4.3 基因表达分析

根据“$Q=2^{\triangle Cq}=2^{\min Cq\text{-}Sample\ Cq}$”计算基因的表达值（Q），以*Hb18S*作为内参基因，根据“$E=Q_{目的基因}\div Q_{内参基因}$”分析目的基因的相对表达值（E）。样本间相对基因表达倍数（Bénédicte et al，2002；Silvia et al，2012；Yuki et al，2015）可直观的反映出彼此间表达差异的大小，根据“$F=E_A\div E_B$”分析样本A对样本B的基因相对表达倍数（folds，F）。

1.3 数据处理

用Excel 2003作图，用SPSS软件的Duncan检验进行多重比较分析：标有不同大写字母者表示组间差异极显著（$P<0.01$），标有不同小写字母者表示组间差异显著（$P<0.05$），而标有相同小写字母者表示组间差异不显著（$P>0.05$）。用Excel TTEST（Array 1，Array 2，Tails 1，Type 1）进行成对比较分析：$P<0.01$表示组间差异极显著，$P<0.05$表示组间差异显著。

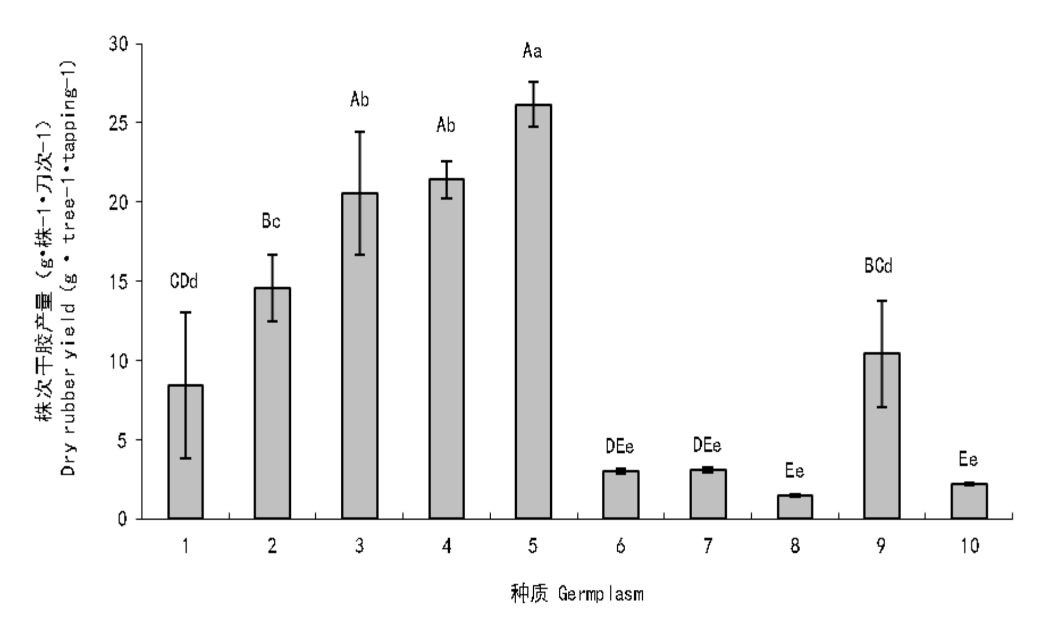
2 结果与分析

2.1 橡胶树种质间株次干胶产量比较

橡胶树不同种质间的株次干胶产量存在明显差异（图1）。热垦523最高，RO/C/8 24/104

最低。总体上，绝大多数的魏克汉种质的株次干胶产量显著高于 1981’IRRDB 种质；RO/I/103/107 在 1981’IRRDB 种质中最高，但也仅达到在魏克汉种质中最低的 PR107 的水平，并且显著低于其他魏克汉种质；其余 4 份 1981’IRRDB 种质的株次干胶产量均极显著低于魏克汉种质，并且四者差异不显著。

魏克汉种质与 1981’IRRDB 种质间株次干胶产量的倍数变化（表 2）表明，魏克汉种质的株次干胶产量是 1981’IRRDB 种质的 0.81~17.39 倍，平均是 6.81 倍，不同种质间的表达倍数有明显差异，变异系数为 63.66%。



注：横坐标，从左到右（1-10）依次代表魏克汉种质 PR107、RRIM600、热垦 628、热垦 525、热垦 523 以及 1981’IRRDB 种质 RO/CM/10 44/160、MT/IT/13 29/8、RO/C/8 24/104、RO/I/103/107、RO/CM/10 44/454；不同大写字母表示组间差异极显著（P＜0.01），不同小写字母表示组间差异显著（P＜0.05），下同。

Note: X-axis, From the left to right (1 to 10), the sample are Wickham clones PR107, RRIM600, Re ken 628, Re ken 525, Re ken 523, and 1981’IRRDB germplasms RO/CM/10 44/160, MT/IT/13 29/8, RO/C/8 24/104, RO/I/103 107, RO/CM/10 44/454; The different capital letters indicate significance at P＜0.01, the different small letters indicate significance at P＜0.05, the same as following.

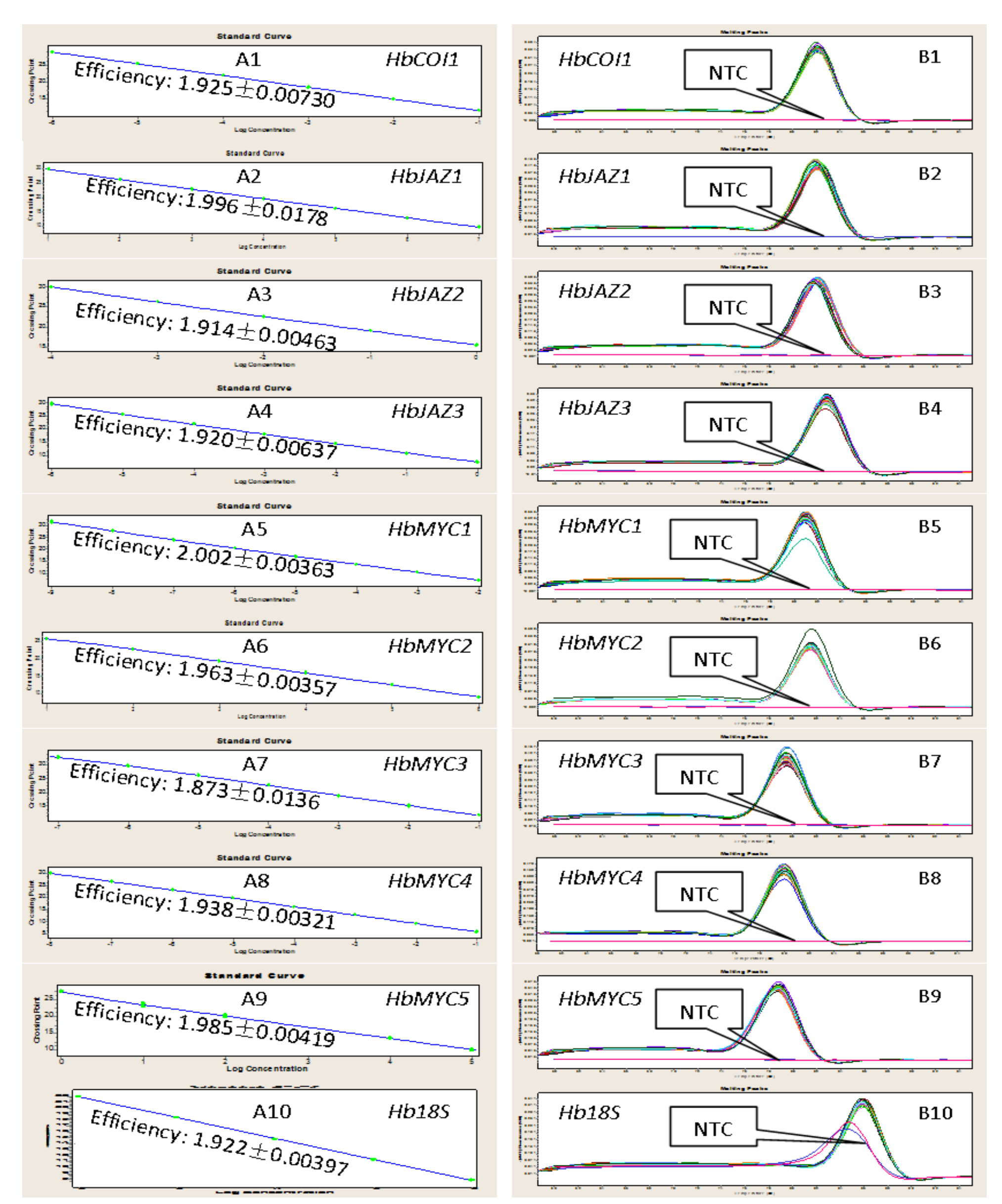
图 1 橡胶树种质间株次干胶产量的比较

Fig. 1 Difference of dry rubber yield among rubber tree germplasms

2.2 基因表达分析

2.2.1 qPCR 引物筛选

以 10 倍梯度稀释的 cDNA 为摸板制备标准曲线，获得目的基因 qPCR 引物的扩增效率在 87%~100%之间（图 2：A）；溶解曲线分析表明，各个基因的引物均获得单一的溶解曲线峰，表明获得特异性的扩增产物，无模板对照（NTC）无扩增产物表明反应体系无污染（图 2：B）。



注：**A**．通过标准曲线计算出 qPCR 的扩增效率为 87%~100%；纵坐标，Cp 值；横坐标，模板浓度的对数。**B**．通过溶解曲线分析 qPCR 扩增的特异性，均获得单一的溶解曲线峰；无模板对照（NTC）无扩增，说明反应体系无污染，结果准确；在 *18S* 的扩增中，虽然 NTC 有很少的一点扩增（Cp =31.1±2.2），但 Cp 值远远小于样品的 Cp 值（9.5±0.3），因此对定量无影响；纵坐标，荧光（530 nm）强度；横坐标，温度（65~95℃）。

Note: **A**. Efficiency of qPCR amplification. The efficiency of each primer pair was assessed by amplification curve analysis. The optimized primer pairs and reaction conditions amplified with a high level of efficiency (87%~100%) when calculated from the slope of the relevant standard curve. Y-axis, Crossing point (Cp); X-axis,log concentration of cDNA template diluted by 10-fold series. **B**. Specificity of qPCR amplification (45 cycles). Dissociation curves for ten genes derived from three technical replicates of each of 10 rubber tree cDNA samples. The optimized primer pairs and reaction conditions produced an amplicon with a single dissociation curve. NTC (no-template control) has no amplification indicates the accuracies of real-time RT-PCR. For the amplification of *18S* , NTC have such a smaller Cp value (31.1±2.2) than the sample's (9.5±0.3) without influence to accuracies. Y-axis, -(d/dT)Flourescence (530 nm); X-axis, Temperature (65~95 ℃).

图 2 qPCR 引物的效率和特异性分析

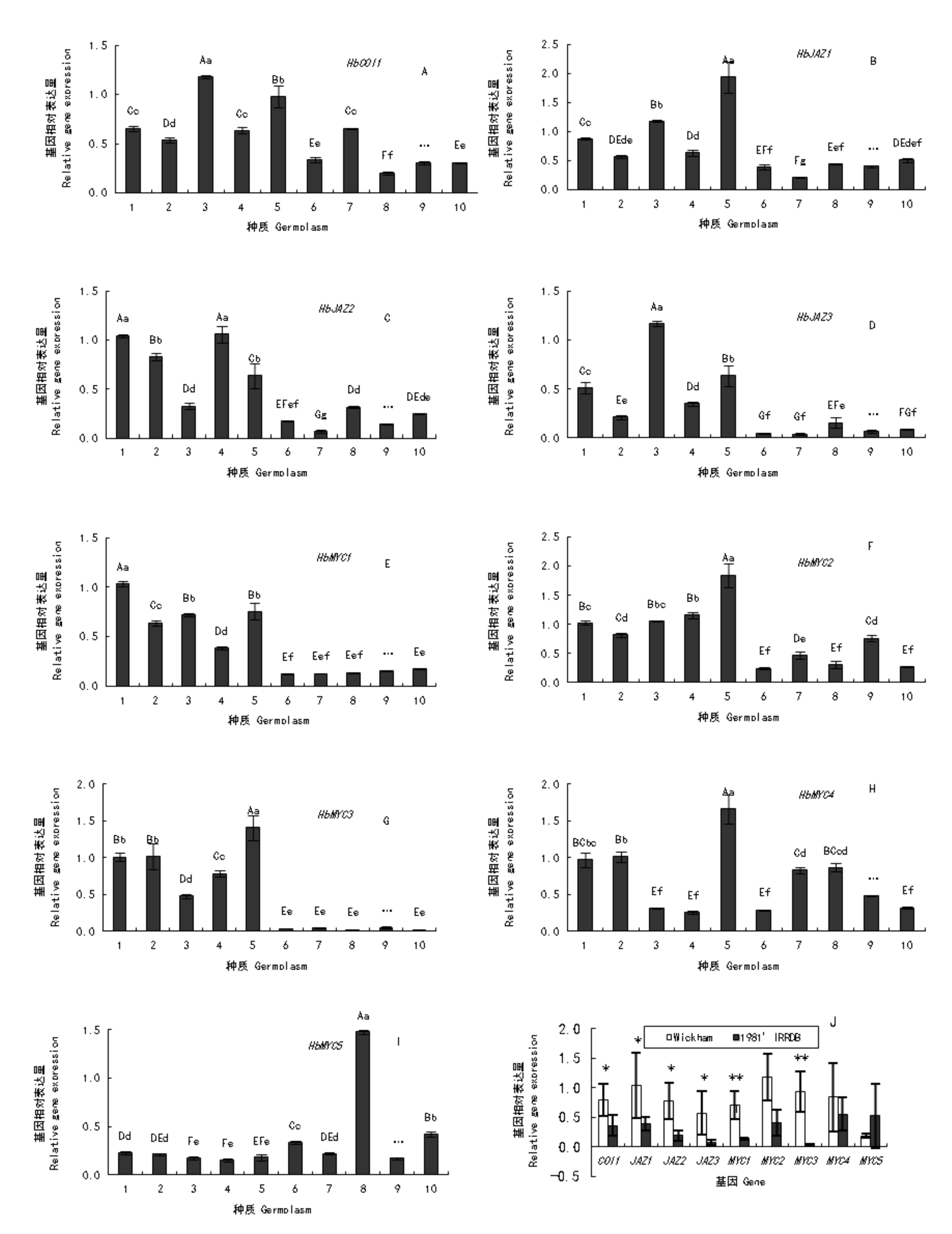
Fig.2 Efficiency and specificity analysis of each qPCR primer pair

2.2.2 橡胶树种质间茉莉酸信号途径关键环节基因的表达分析

qPCR 分析表明，*HbCOI1*（图 3：A）和 *HbMYC2*（3：F）仅在 1 个（20%）1981'IRRDB 种质中达到魏克汉种质的表达水平； *HbJAZ2*（图 3：C）和 *HbJAZ3*（图 3：D）仅在 1（20%）个魏克汉种质中低至 1981'IRRDB 种质的表达水平；*HbJAZ1*（图 3：B）有 2 个（40%）魏克汉种质低至 1981'IRRDB 种质的表达水平；*HbMYC4*（图 3：H）和 *HbMYC5*（图 3：I）在魏克汉种质和 1981'IRRDB 种质中表达水平相当的占 80%以上；值得注意的是，*HbMYC1*（图 3：E）和 *HbMYC3*（图 3：G）在所有魏克汉种质中的表达量均显著高于 1981'IRRDB 种质。统计分析表明，*HbMYC1* 和 *HbMYC3* 在魏克汉种质组的表达量极显著高于 1981'IRRDB 种质组， *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbJAZ2*、*HbJAZ3* 和 *HbMYC2* 的表达量显著高于 1981'IRRDB 种质组，但是 *HbMYC4* 和 *HbMYC5* 在两组间的表达差异不显著（图 3：J）。

魏克汉种质分别对 1981'IRRDB 种质的基因表达倍数的结果表明（表 2），优势表达基因是 *HbJAZ2*、*HbJAZ3*、*HbMYC1* 和 *HbMYC3*，表达倍数分别为 5.30、8.96、5.09 和 27.79 倍。但是，同一基因在不同种质间的表达倍数有明显差异，变异系数分别为 47.66%（*HbCOI1*）、63.01%（*HbJAZ1*）、72.60%（*HbJAZ2*）、76.41%（*HbJAZ3*）、32.83%（*HbMYC1*）、48.45%（*HbMYC2*）、45.77%（*HbMYC3*）、81.17%（*HbMYC4*）、58.16%（*HbMYC5*）。值得注意的是，除了 Re ken 628 对 RO/I/103 107 的表达倍数为 8.74 倍（0.04%），*HbMYC3* 在 5 个魏克汉种质对 1981'IRRDB 种质的表达倍数均在 10 倍以上（96%）。

统计分析表明，*HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbJAZ2*、*HbJAZ3*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 和 *HbMYC3* 这 7 个基因在魏克汉种质中的表达平均值均显著高于 1981'IRRDB 种质，其中 80%达到极显著水平（图 4）。



注：**J**. 魏克汉种质组与 1981’IRRDB 种质组间基因的表达分析； **表示组间差异极显著（*P*＜0.01），*表示组间差异显著（*P*＜0.05）。

Note: **J**. Average gene expression level of Wickham clones group and 1981’IRRDB germplasms group; **indicate significance at *P*＜0.01, *indicate significance at *P*＜0.05.

图 3 橡胶树种质胶乳中茉莉酸信号途径相关基因的表达分析

Fig.3 Expression patterns of genes related to jasmonate signaling in latex from rubber tree germplasms tapped under the S/2D d3 tapping system

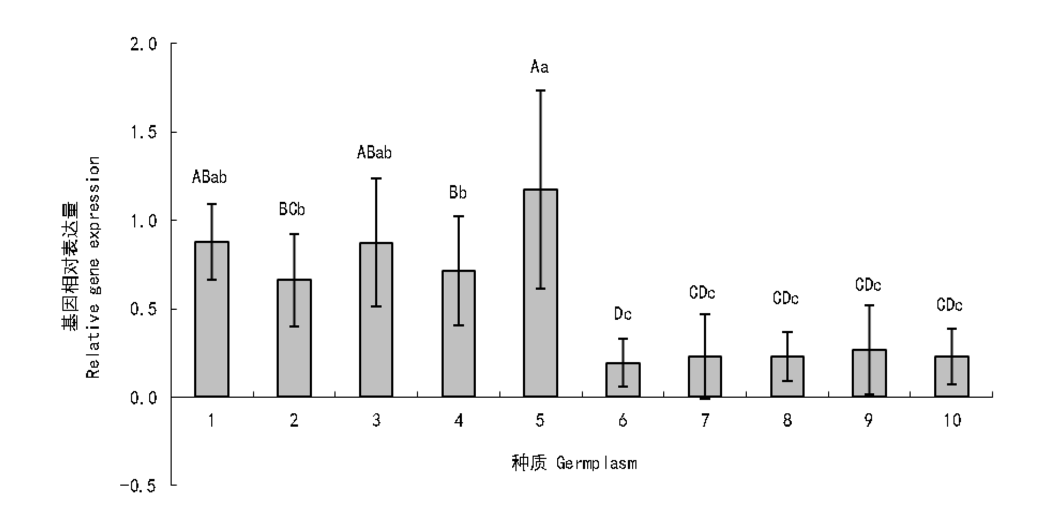
表 2 魏克汉种质与 1981’IRRDB 种质间橡胶产量和基因表达的倍数变化

Table 2 Fold changes on rubber yield and gene expression level between Wickham clones and 1981’IRRDB germplasms

种质比较对 Comparative germplasm pairs	橡胶产量倍数 Rubber yield folds	基因表达倍数 Gene expression folds								
		COI1	*JAZ1*	*JAZ2*	*JAZ3*	*MYC1*	*MYC2*	*MYC3*	*MYC4*	*MYC5*
1 vs. 6	2.79	1.94	2.28	5.92	10.27	8.61	4.20	26.36	3.32	0.68
1 vs. 7	2.70	1.00	4.14	14.93	12.88	8.14	2.18	24.36	1.16	1.04
1 vs. 8	5.59	3.22	1.98	3.29	3.27	7.59	3.31	40.05	1.12	0.16
1 vs. 9	0.81	2.18	2.17	7.15	7.60	6.80	1.35	18.45	2.01	1.34
1 vs. 10	3.81	2.13	1.73	4.18	5.87	6.00	3.81	40.30	3.02	0.54
2 vs. 6	4.84	1.59	1.48	4.71	4.26	5.34	3.37	26.54	3.46	0.63
2 vs. 7	4.68	0.82	2.69	11.88	5.34	5.05	1.75	24.52	1.22	0.98
2 vs. 8	9.67	2.64	1.28	2.62	1.36	4.71	2.66	40.32	1.17	0.15
2 vs. 9	1.39	1.78	1.41	5.69	3.15	4.21	1.08	18.58	2.10	1.26
2 vs. 10	6.59	1.74	1.12	3.33	2.43	3.72	3.06	40.58	3.15	0.51
3 vs. 6	6.83	3.50	3.07	1.85	23.40	6.02	4.34	12.48	1.06	0.52
3 vs. 7	6.61	1.80	5.57	4.67	29.35	5.70	2.25	11.53	0.37	0.80
3 vs. 8	13.67	5.80	2.67	1.03	7.46	5.31	3.43	18.96	0.36	0.12
3 vs. 9	1.97	3.93	2.92	2.24	17.32	4.76	1.39	8.74	0.64	1.03
3 vs. 10	9.32	3.84	2.32	1.31	13.36	4.20	3.94	19.08	0.96	0.41
4 vs. 6	7.12	1.88	1.64	5.99	6.99	3.22	4.76	20.40	0.89	0.45
4 vs. 7	6.89	0.96	2.98	15.12	8.77	3.04	2.47	18.85	0.31	0.69
4 vs. 8	14.24	3.11	1.43	3.33	2.23	2.84	3.75	31.00	0.30	0.10
4 vs. 9	2.05	2.11	1.56	7.25	5.18	2.54	1.52	14.28	0.54	0.89
4 vs. 10	9.71	2.06	1.24	4.24	3.99	2.24	4.32	31.19	0.81	0.36
5 vs. 6	8.69	2.90	5.04	3.61	12.76	6.28	7.57	36.68	5.69	0.53
5 vs. 7	8.41	1.49	9.15	9.11	16.00	5.94	3.93	33.89	1.99	0.82
5 vs. 8	17.39	4.82	4.38	2.01	4.07	5.54	5.98	55.73	1.92	0.12
5 vs. 9	2.51	3.26	4.79	4.36	9.45	4.96	2.43	25.68	3.44	1.06
5 vs. 10	11.85	3.19	3.82	2.55	7.29	4.38	6.87	56.09	5.18	0.43
Wickham groups vs. 1981’IRRDB groups	6.81 ± 4.33	2.55 ±1.21	2.91 ±1.84	5.30 ± 3.84	8.96 ± 6.85	5.09 ± 1.67	3.43 ± 1.66	27.79 ± 12.72	1.85 ± 1.50	0.62 ± 0.36

注：因为是比率计算，所以表中不显示标准差（*s*）。

Note: Due to the ratio calculation, the standard deviations (*s*) are not represented on this table.



注：基因相对表达量为每个种质中 *HbCOI1, HbJAZ1, HbJAZ2, HbJAZ3, HbMYC1, HbMYC2, HbMYC3* 这 7 个基因表达值的平均数±标准差。

Note: Data are $\bar{x} \pm s$ of seven genes include *HbCOI1, HbJAZ1, HbJAZ2, HbJAZ3, HbMYC1, HbMYC2, HbMYC3* in each germplasm.

图 4 橡胶树种质胶乳中 7 个茉莉酸信号途径相关基因表达的平均值

Fig.4 Average expression values of seven genes related to jasmonate signaling in latex from rubber tree germplasms

3．讨论与结论

割胶促进橡胶树合成天然橡胶，2 次割胶之间的橡胶再生涉及到橡胶合成酶基因的诱导表达调控（Deng et al, 2018; 赵悦, 2011）。割胶促进天然橡胶生物合成与激活乳管细胞中的茉莉酸信号途径密切相关（Deng et al，2018）。茉莉酸信号传导的核心环节是 COI1、JAZ 和 MYC（Chini et al，2009）；*HbMYC1* 和 *HbMYC3* 的基因表达水平与橡胶树种质的干胶产量正相关（卢世香，2010；何鑫，2013）。因此，可通过研究橡胶树“*HbCOI1-HbJAZs-HbMYCs*”在不同干胶产量种质中的表达差异来筛选产量相关的分子标记。

变异幅度大于 2 倍的基因为差异表达基因（Bénédicte et al，2002），高产组种质胶乳中 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbJAZ2*、*HbJAZ3*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 和 *HbMYC3* 基因的表达水平是低产组种质的 2 倍以上，表明这 7 个基因的表达水平与干胶产量正相关。其中 *HbMYC3* 基因的表达差异最大，与橡胶树种质的干胶产量相关性最高，有望作为橡胶树产量育种的一个的分子标记。下一步将扩大研究群体来印证该推测。

5 个 *HbMYC* 家族成员中，*HbMYC1*、*HbMYC2*、*HbMYC3* 在胶乳中特异表达，而 *HbMYC4* 和 *HbMYC5* 主要在花中表达（赵悦，2011）。*HbMYC4* 和 *HbMYC5* 的基因表达水平与橡胶树种质的干胶产量不相关，推测参与橡胶合成调控的 *HbMYCs* 成员主要是 *HbMYC1*、*HbMYC2* 和 *HbMYC3*。个别的，RO/C/8 24/104 中 *HbMYC5* 的基因表达水平均极显著高于其他种质，是其他种质的 4.34-9.67 倍，平均是 6.96 倍，变异系数仅为 29.15%；*HbMYC5* 在橡胶树中的功能尚不完全清楚，RO/C/8 24/104 有望成为研究 *HbMYC5* 功能的优良材料。

“HbCOI1-HbJAZs-HbMYCs”彼此间以及家族成员间的相互作用（赵悦，2011；刘伟，2011；

何鑫, 2013；包杰，2014；肖华，2015；王靖，2016；姚笛，2016）表明他们在调控橡胶生物合成过程中具有协同作用。尽管个别基因在个别低产种质中已达到高产种质的表达水平，但高产种质中与干胶产量相关的 7 个基因的整体平均表达水平均显著并且 80%极显著高于低产种质，进一步证实了他们之间的协同作用。

韧皮部中次生乳管的分化能力（卢世香, 2010; Chen et al, 2016）、两次割胶之间橡胶的再生能力（Deng et al, 2018）和排胶能力（王冬冬, 2016; 蔡甫格, 2011; 李言等, 2015）是影响橡胶产量的 3 个主要因素。该研究在橡胶再生能力调控层面获得了一些有价值的结果。非刺激割胶条件下 PR107 的排胶时间短以及乙烯利刺激能显著延长其排胶时间（王冬冬等, 2016; 蔡甫格, 2011）和增加排胶量（李言等, 2015），说明其具有一定的乳管分化能力，并且排胶能力可能是限制 PR107 橡胶产量的主要原因之一；PR107 中与干胶产量相关的 7 个基因均具有较高的表达水平说明其橡胶再生能力强，而其干胶产量（非刺激）相对偏低进一步证实该推测。RO/I/103/107 的干胶产量在低产种质中最高，已达到 PR107 的水平；而与干胶产量相关的 7 个基因中有 6 个的表达水平均比较低，仅 *HbMYC2* 的表达水平与 PR107 相当；推测其橡胶再生能力弱，但具有一定的乳管分化能力和/或排胶能力，同时也说明单个基因对橡胶产量的贡献不大，也证实了这些基因在调控橡胶再生中的协同（增效）作用。深入研究这 3 个因素对不同橡胶树种质干胶产量的贡献率，是一个有意义的课题。

参考文献：

BAO J, 2014. Studies on the transcriptional regulation of key enzymes of natural rubber biosynthesis by MYC and Myb transcription factors[D]. Haikou: Hainan University: 1-70.[包杰, 2014. MYC 和 Myb 转录因子对橡胶生物合成关键酶转录调节的研究[D]. 海口: 海南大学: 1-70.]

BÉNÉDICTE C, ANTHONY C, YVES H, et al, 2002. Expression profiling of the whole Arabidopsis Shaggy-Like Kinase multigene family by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction[J]. Plant Physiol, 130(2): 577-590.

CAI FG, 2011. Hev b 7 protein in C-serum involves in the prolongation of duration of latex flow stimulated by ethrel in rubber tree[D]. Haikou: Hainan University: 1-59.[蔡甫格, 2011. 乙烯促进橡胶树排胶与 C-乳清 Hev b 7 的关系[D]. 海口: 海南大学：1-59.]

CHEN YY, GAO XS, ZHANG XF, et al, 2016. Relationship between the number of tapping-induced secondary laticifer lines and rubber yield among *Hevea* germplasm[J]. Front Agric Sci Eng, 3(4): 363-367.

CHINI A, BOTER M, SOLANO R, 2009. Plant oxylipins: COI1/JAZs/MYC2 as the core jasmonic acid-signalling module[J]. Febs J, 276(17): 4682-4692.

CHINI A, FONSECA S, FERNÁNDEZ G, et al, 2007. The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling[J]. Nature, 448(7154): 666-671.

DENG XM, GUO D, YANG SG, et al, 2018. Jasmonate signalling in regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. J Exp Bot, 69(15): 3559-3571.

DONNELL PJ, CALVERT C, ATZORN R, et al, 1996. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants[J]. Science, 274(5294): 1914-7.

FONSECA S, CHINI A, HAMBERG M, et al, 2009. (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate[J]. Nat Chem Biol, 5(5): 344-50.

HE X, 2013. Research on the expression of several members of JAZ and MYC genes family correlated with natural rubber yield in *Hevea Brasilensis* Muell.Arg.[D]. Haikou: Hainan University: 1-77.[何鑫, 2013. 巴西橡胶树 JAZ 和 MYC 家族几个成员基因表达和产量相关性的研究[D]. 海口: 海南大学：1-77.]

LI Y, SHI MJ, CHEN YY, et al, 2015. Effect of a novel latex flow regulator on increasing rubber yield of rubber tree clone Reyan8-79[J]. Chin J Trop Crop, 36(10): 1785-1790.[李言，史敏晶，陈月异，等, 2015. 新型排胶调节剂对橡胶树无性系热研 8-79 的增产效应[J]. 热带作物学报, 36(10): 1785-1790.]

LIU W, 2011. Screen the proteins interacting with HbJAZ of *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University: 1-55.[刘伟, 2011. 橡胶树 HbJAZ1 基因的互作蛋白筛选研究[D]. 海口: 海南大学：1-55.]

LU SX,2010. Structural and HblMYC1 gene correlated with natural rubber yield in *Hevea brasilensis* Muell. Arg.[D]. Haikou: Hainan University: 1-49.[卢世香, 2010. 树皮结构和 HblMYC1 基因与橡胶树产量相关性研究[D]. 海口: 海南大学：1-49.]

QI T, SONG S, REN Q, et al, 2011. The Jasmonate-ZIM-domain proteins interact with the WD-Repeat/bHLH/MYB complexes to regulate Jasmonate-mediated anthocyanin accumulation and trichome initiation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell, 23(5): 1795-1814.

SCHWEIZER F, FERNÁ NDEZ-CALVO P, ZANDER M, et al, 2013. *Arabidopsis* basic helix-loop-helix transcription factors MYC2, MYC3, and MYC4 regulate glucosinolate biosynthesis, insect performance, and feeding behavior[J]. Plant Cell, 25(8): 3117-3132.

SILVIA DS, HANSJÖRG S, JULIA K, et al, 2012. Stress-induced GSK3 regulates the redox stress response by phosphorylating glucose-6-Phosphate dehydrogenase in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 24: 3380-3392.

WANG DD, SHI MJ, YANG SG, et al, 2016. Effect of ethrel on the gene expression and content of laticifer plugging-related protein in *Hevea brasiliensis*[J]. Chin J Trop Crop, 37(6): 1122-1127.[王冬冬，史敏晶，杨署光，等，2016. 乙烯利对橡胶树乳管伤口堵塞相关蛋白基因表达和含量的影响[J]. 热带作物学报，37(6): 1122-1127.]

WANG J, DENG XM, TIAN WM, 2016. Screening and in vitro functional analysis of the HblMYC3 interacted proteins in laticifer cell of *Hevea brasiliensis*[J]. Chin J Trop Crop, 37(7): 1312-1317.[王靖，邓小敏，田维敏, 2016. 巴西橡胶树乳管细胞 HblMYC3 互作蛋白筛选与功能分析[J]. 热带作物学报, 37(7): 1312-1317.]

XIAO H, 2015. Validation and characterization of HbJAZ1 interacted proteins of *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University: 1-70.[肖华，2015. 巴西橡胶树 HbJAZ1 互作蛋白的验证及功能鉴定[D]. 海口: 海南大学：1-70.]

YAO D, 2016. Cloning and interactions of HbJAZs of *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University: 1-55.[姚笛, 2016. 巴西橡胶树 HbJAZs 基因的克隆与互作蛋白鉴定[D]. 海口: 海南大学：1-55.]

YUKI, TAKASHI F, MUNETAKA S, et al, 2015. A novel system for xylem cell differentiation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Mol Plant, 8: 612-621.

ZENG RZ, DUAN CF, LI Y,e t al, 2003. Construction of cDNA library and analyses of cDNA sequences in latex from JA-stimulated rubber trees[J]. Chin J Trop Crop, 24(3): 1-6.[曾日中,段翠芳，黎瑜，等, 2003. 茉莉酸刺激的橡胶树胶乳 cDNA 消减文库的构建及其序列分析[J]. 热带作物学报, 24(3): 1-6.]

ZENG X, HU YS, HUANG HS, et al, 2006. The evaluation report of 1981’IRRDB rubber tree germplasm—1987-field-planted germplasm[J]. Chin J Trop Crop, 27(2): 34-38.[曾霞，胡彦师，黄华孙，等, 2006. 橡胶树 1981’IRRDB 种质主要性状鉴定评价—1987 年定植种质鉴定评价研究报告[J]. 热带作物学报, 27(2): 34-38.]

ZHAO Y, 2011. Involvement of jasmonate signaling pathway in regulating rubber biosynthesis in laticifer cells of *Hevea brasilensis*[D]. Haikou: Hainan University: 1-159.[赵悦, 2011. 巴西橡胶树乳管细胞茉莉酸信号途径对橡胶生物合成调节的研究[D]. 海口: 海南大学：1-159.]